

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
30. November 2000 (30.11.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/71676 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 1/26, 1/20

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/04365

(22) Internationales Anmeldedatum:
16. Mai 2000 (16.05.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
199 23 785.9 25. Mai 1999 (25.05.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): COGNIS DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE];
Henkelstrasse 67, D-40589 Düsseldorf (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WEGENER, Matthias
[DE/DE]; Benrather Schlossallee 92, D-40597 Düsseldorf

(DE). MOLITOR, Jean-Pierre [LU/DE]; Am Nettesfeld 28, D-40589 Düsseldorf (DE). DE HAUT, Christian [FR/FR]; 53, boulevard de Seine, F-77310 Boissise le Roi (FR). ABRIBAT, Benoit [FR/FR]; 22, rue de la Messe, F-91490 Dannemois (FR). ROGGE, Bent [DE/DE]; Linienstrasse 46, D-40227 Düsseldorf (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): BG, BR, CN, CZ, HU, IN, JP, KR, MX, NO, PL, RO, SI, SK, TR, UA, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: UTILIZATION OF PIT EMULSIONS IN FERMENTATION PROCESSES

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON PIT-EMULSIONEN IN FERMENTATIONSVERFAHREN

(57) Abstract: The invention relates to the utilization of O/W emulsions in fermentation processes, said emulsions containing at least water, emulsifying agents and an oil phase that contains one or more compounds selected from the groups consisting of: a) fatty acid alkyl ester and/or b) triglycerides of vegetable origin, wherein the emulsions are produced according to the PIT method and the emulsions have an average drop size ranging from 50 to 400 nm.

(57) Zusammenfassung: Verwendung von O/W-Emulsionen, enthaltend mindestens Wasser, Emulgatoren sowie eine Ölphase, die einen oder mehrere Verbindungen enthält, ausgewählt aus den Gruppen a) der Fettsäurealkylester und/oder b) der Triglyceride pflanzlichen Ursprungs, wobei die Emulsionen nach dem PIT-Verfahren hergestellt werden und eine mittlere Tröpfchengröße im Bereich von 50 bis 400 nm aufweisen, in Fermentationsverfahren.

WO 00/71676 A1



Verwendung von PIT-Emulsionen in Fermentationsverfahren

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Emulsionen, die nach dem PIT-Verfahren hergestellt werden, in Fermentationsverfahren.

Bei der Synthese komplexer Naturstoffe oder sonstiger organischer Verbindungen, beispielsweise Antibiotika, werden zunehmend mikrobiologische Verfahren eingesetzt. Dabei handelt es sich um eine Stoffumwandlung unter anaeroben oder aeroben Bedingungen, bei der Mikroorganismen, insbesondere aber Bakterien oder Pilze, beteiligt sind. Für derartige Verfahren werden in der Fachwelt verschiedene, nicht immer klar voneinander abgegrenzte Ausdrücke, wie "*Bioconversion*", "*Biotransformation*" oder "*Fermentation*" verwendet. Der letztere Ausdruck wird auch im Rahmen der vorliegenden Anmeldung für solche Verfahren verwendet, bei denen Mikroorganismen, vorzugsweise Bakterien, zur Umwandlung bzw. Synthese von chemischen Verbindungen verwendet werden.

Für die Entwicklung und Optimierung von Fermentationsprozessen ist insbesondere das Reaktionsmedium, in dem die mikrobiologische Umwandlung stattfindet, von Bedeutung. Das Reaktionsmedium, in aller Regel eine wäßrige Lösung oder Dispersion, beeinflusst insbesondere die Ausbeute und Effizienz des Verfahrens. Die Mikroorganismen benötigen als Nährstoffe Kohlenstoff, Stickstoff und bestimmte Spurenelemente in gebundener Form, z.B. Calcium, Eisen, Phosphor oder Zink, um eine erfolgreiche Metabolisierung zu den gewünschten Produkten möglich zu machen. Weiterhin muß regelmäßig ein bestimmter, meistens enger Temperatur- und pH-Bereich eingehalten werden. Zu weiteren Einzelheiten sei hier auf das Lehrbuch von W. Crueger/A. Crueger, *Biotechnologie - Lehrbuch der angewandten Mikrobiologie*, 2. Auflage 1984, R. Oldenbourg Verlag, verwiesen. Insbesondere Kapitel 5 dieses Werkes beschäftigt sich mit den Grundlagen der Fermentationstechnik. Diese Literaturstelle gehört daher auch ausdrücklich zur Offenbarung der vorliegenden Anmeldung. Als Nährstoffe für die Mikroorganismen werden neben energiereichen Zuckern und deren Derivaten in vielen Verfahren zusätzlich natürliche Fette und Öle, sowie Derivate dieser Stoffklassen, wie Glycerin, Glyceride, Fettsäuren oder Fettsäureester eingesetzt. Selbstverständlich dürfen die Kulturmedien keine Inhaltsstoffe aufweisen, die die Metabolisierung der Mikroorganismen negativ beeinflussen können.

Aus der DE 37 38 812 A1 ist beispielsweise ein mikrobielles Verfahren zur Herstellung von alpha-omega-Dicarbonsäuren bekannt, wobei Bakterien des Stamms *Candida tropicalis* Methyllaurat in die gewünschten Dicarbonsäuren umwandeln. Diese Umwandlung findet in einem wäßrigen Medium bei einem pH-Wert von 6,0 und einer Temperatur von 30 °C statt. Das Medium enthält, neben den Mikroorganismen, als Energielieferant Glucose, weiterhin als Emulgator ethoxyliertes Sorbitanmonooleat, Hefeextrakt, Maisquellwasser sowie anorganische N- und P-Quellen. Dem Medium wird dann das Methyllaurat zudosiert. Der Schrift ist kein Hinweis auf den Emulsionstyp zu entnehmen, der sich im Fermenter ausbildet bzw. in dem das Methyllaurat der Fermentationsbrühe zudosiert wird. Aus der EP 0 535 939 A1 ist ein Verfahren zur Herstellung von omega-9-mehrfach ungesättigten Fettsäuren bekannt, wobei in einem wäßrigen Kulturmedium geeignete Mikroorganismen in Gegenwart von Zuckern als Energielieferanten und anorganischen oder organischen Stickstoffquellen, sowie in Gegenwart von Fettsäuremethylestern die gewünschten mehrfach ungesättigten Fettsäuren produzieren.

Es sind aber auch Verfahren bekannt, wo nur Fettstoffe der oben bezeichneten Art als Energielieferanten verwendet werden. Dies ist besonders von wirtschaftlichem Interesse, da derartige Fettstoffe in der Regel preiswerter sind als Zucker, Stärke und ähnliche Verbindungen. Park et al. beschreiben (Park et al., Journal of Fermentation and Bioengineering, Vol. 82, No. 2, 183-186, 1996) einen Fermentationsprozess zur Herstellung von Tylosin, bei dem Mikroorganismen des Stammes *Streptomyces fradiae* in einem wäßrigen Medium verwendet werden, wobei als einzige Kohlenstoffquelle Rapsöl in Ausgangsmengen von etwa 60 g/l enthalten ist.

Bei Fermentationsverfahren spielt außerdem der Sauerstoffgehalt im Medium bzw. der Fermentationsbrühe, eine entscheidende Rolle. Dabei kommt dem Sauerstoff bei aeroben Prozessen die Rolle eines Substrates zu. Entscheidend ist, ob ein für das jeweilige Verfahren ausreichender Sauerstoffübergang von der Gas- in die Flüssigphase, die die Mikroorganismen enthält, stattfinden kann. Ein wichtiger Parameter stellt die spezifische Ausstauschfläche dar, die in der Regel indirekt über den Sauerstoffübergangskoeffizienten k_{La} bestimmt wird (vergl. Literaturstelle Crueger, Kapitel 5, Seite 71 ff). Die Einstellung des optimalen Sauerstoffeintrags erfolgt typischerweise durch Rühren der Fermentationsbrühe, wobei der Sauerstoff bzw. die Luft mit der Flüssigkeit vermischt wird und so an den Grenzflächen der Gasaustausch stattfindet. Allerdings kann der erhebliche mechanische Energieeintrag durch

starkes Rühren, wie Park et al. ausführen, auch Teile der Kultur zerstören, und so die Ausbeute des Verfahrens verringern. Die abgestorbenen Mikroorganismen werden außerdem selbst weiter abgebaut und können durch die gebildeten Abbauprodukte zu einer Vergiftung der Kultur führen, die eine wirtschaftliche Produktion unmöglich macht. Aus der Arbeit von Goma und Rols (G. Goma, J.L. Rols, Biotech. Let., Vol 13, No. 1, Seiten 7 bis 12, 1991) ist bekannt daß die Verwendung von Sojaöl in Fermentationsverfahren zur Herstellung von Antibiotika zu einer Verbesserung des Sauerstoffübergangskoeffizienten k_{La} führt, was bei gleichem Energieeintrag (Rühren) zu einem Anstieg der Ausbeute des Gesamtverfahrens führen kann.

Der vorliegenden Erfindung lag nun die Aufgabe zugrunde, Fermentationsverfahren so zu verbessern, daß einerseits preiswerte Kohlenstoffquellen eingesetzt werden können und andererseits eine ausreichende Versorgung der Mikroorganismen mit Sauerstoff gewährleistet ist, ohne daß eine unzulässig hohe mechanische Belastung der Mikroorganismen durch Rühren auftritt. Es sollte eine Weg gefunden werden, den mechanischen Energieeintrag bei Fermentationsverfahren zu minimieren, ohne daß es zu einer Verringerung der Ausbeute kommt. Vorzugsweise soll eine Erhöhung der Ausbeute trotz verringertem Energieeintrag möglich sein.

Es wurde gefunden, daß die Verwendung von speziellen, feinteiligen Öl-in-Wasser (O/W) Emulsionen die obige Aufgabe löst.

In einer ersten Ausführungsform wird die Verwendung von O/W-Emulsionen in Fermentationsverfahren beansprucht, wobei die Emulsionen mindestens Wasser, Emulgatoren sowie eine Ölphase enthalten und die Ölphase eine oder mehrere Verbindungen, ausgewählt aus den Gruppen

- a) der Fettsäurealkylester und/oder
- b) der Triglyceride pflanzlichen Ursprungs enthalten.

die Emulsionen nach dem PIT-Verfahren hergestellt werden und eine Tröpfchengröße im Bereich von 50 bis 400 nm aufweisen.

Es ist bekannt, daß Öl-in-Wasser-Emulsionen (O/W), die mit nichtionogenen Emulgatoren hergestellt und stabilisiert sind, bei Erwärmen eine in der Regel reversible Phaseninversion erfahren können, d.h., daß innerhalb eines bestimmten Temperaturintervalls ein Wechsel des

Emulsionstyps von O/W zu W/O (Wasser-in-Öl-Emulsion) erfolgt. Da dabei das Öl zur äußeren, kontinuierlichen Phase wird, sinkt die Leitfähigkeit der Emulsion auf Null. Der Mittelwert der Temperaturen zwischen maximaler und gerade auf Null gefallener Leitfähigkeit der Emulsion bei Temperaturerhöhung wird Phaseninversionstemperatur (PIT) und die auf diese Weise hergestellten Emulsionen werden PIT-Emulsionen genannt.

Es ist auch bekannt, daß die Lage der PIT von vielen Faktoren abhängig ist, zum Beispiel von der Art und des Phasenvolumens der Ölkomponente, von der Hydrophilie und der Struktur der Emulgatoren und der Zusammensetzung des Emulgatorsystems.

Wesentlich für die Feinteiligkeit der PIT-Emulsion ist deren Herstellungsverfahren. In der Regel werden die Wasser- und Ölphase mit den Emulgatoren vermischt und danach auf eine Temperatur oberhalb der PIT erwärmt. Die Leitfähigkeit muß dabei auf Null fallen. Anschließend wird die Emulsion wieder auf die Ausgangstemperatur abgekühlt (in der Regel Raumtemperatur, ca. 20°C). Dabei erfolgt erst durch Überschreiten und das anschließende Unterschreiten der PIT die Ausbildung der erfindungsgemäß verwendeten Emulsion.

Es ist bekannt, daß nur solche PIT-Emulsionen besonders feinteilig sind, welche bei der Phaseninversion eine Mikroemulsionsphase mit niedriger Grenzflächenspannung zwischen Öl und Wasser oder eine lamellare flüssigkristalline Phase ausbilden. Der entscheidende Schritt ist dabei immer die Rückinvertierung bei Abkühlung.

Die DE 38 19 193 A1 offenbart ein Verfahren zur Herstellung niedrigviskoser O/W-Emulsionen mittels der Phaseninversionstechnik. Hierin wird diese Technik auf Mischungen angewandt, die eine Ölkomponente, einen nichtionischen Emulgator und einen Coemulgator in wäßrigem Milieu enthalten. Die Ölkomponente soll dabei aus 50 - 100 Gew.-% spezieller Mono- bzw. Diester, 0 - 50 Gew.-% C₈ - C₂₂-Fettsäuretriglyceriden und gegebenenfalls 0 - 25 Gew.-% eines Kohlenwasserstofföls bestehen. Die DE 38 19 193 A1 offenbart über die genannten Bestandteile hinaus keine weiteren Komponenten und nennt keinen Verwendungszweck der hergestellten Emulsionen.

Aus der DE 41 40 562 A1 ist ein Verfahren zur Herstellung von O/W-Emulsionen nach dem PIT-Prinzip bekannt, wobei polare Ölkomponenten mit einem Emulgatorsystem, enthaltend nicht-ionische Emulgatoren des HLB-Werte-Bereichs 10 bis 18 in Gegenwart von Coemulgatoren aus der Gruppe der C₁₂₋₂₂ Fettalkohole und/oder Guerbet-Alkohole über die PIT-Temperatur der Emulsion erwärmt und anschließend wieder abgekühlt werden, wobei feinteilige Emulsionen erhalten werden.

Aus der DE 196 35 553 A1 sind Emulgatorsysteme zur Herstellung von feinteiligen PIT-Emulsionen bekannt, die als wesentliche Bestandteile Fettsäureethoxylate und Partialglyceride enthalten.

Die erfindungsgemäßen Emulsionen zeichnen sich insbesondere durch ihre Feinteiligkeit aus. Die Tröpfchengröße beträgt 50 bis 400 nm. Vorzugsweise liegt die Tröpfchengröße im Bereich von 100 bis 300 nm, insbesondere im Bereich von 180 bis 300 nm und besonders bevorzugt im Bereich von 160 bis 250 nm. Bei den Tröpfchengrößen wird eine Verteilung nach *Gauss* angenommen. Die Messung erfolgt beispielsweise durch Lichtstreuung oder Absorption.

Die Feinteiligkeit der Öltröpfchen führt zu einer großen Oberfläche zwischen Öl- und Wasserphase und ermöglicht so einen schnellen Kontakt zwischen den in der wäßrigen Phase enthaltenen Mikroorganismen und der die Nährstoffe enthaltende Ölphase. Durch die große Oberfläche wird auch der Gasaustausch, insbesondere von Sauerstoff und CO₂, vereinfacht. Zusätzlich kann sich die Viskosität der Emulsion und somit des gesamten Fermentationsmediums verringern.

In der Folge ist es daher möglich die Rührgeschwindigkeit des Fermentationsmediums deutlich zu verringern wodurch eine Erhöhung der Ausbeute des Fermentationsprozeß ermöglicht wird.

Die PIT-Emulsionen werden erfindungsgemäß dem wäßrigen Fermentationsmedium, welches die Mikroorganismen sowie ggf. weitere Hilfs- und Zusatzstoffe enthält, zudosiert. Die Einzelheiten dieses Verfahrens, insbesondere die Geschwindigkeit und Menge der zudosierten Emulsion, ergeben sich aus der Art der Mikroorganismen und des gewählten Fermentationsverfahrens und können vom Fachmann an die spezifischen Gegebenheiten angepaßt werden.

Die PIT-Emulsionen enthalten, neben Wasser noch eine Ölphase, die Verbindungen aus der Gruppe der Fettsäurealkylester a) oder der nativen pflanzlichen Öle und deren Derivate b) enthält. Es handelt sich bei den Gruppen a) und b) um hydrophobe, in Wasser nicht oder nur sehr gering lösliche Verbindungen, die sowohl als Nährstoffe, also Energielieferanten, für die

im Fermentationsprozeß eingesetzten Bakterien dienen können, die aber auch Ausgangsstoffe, also Substrate für die durch Biokonversion gewünschten Produkte darstellen können.

Geeignete Ester der Gruppe a) leiten sich insbesondere ab von gesättigten, ungesättigten, linearen oder verzweigten Fettsäuren mit insgesamt 7 bis 23 Kohlenstoffatomen. Es handelt sich also um Verbindungen der Formel (I)



wobei R^1 für einen Alkylrest mit 6 bis 22 C-Atomen steht und R^2 ein Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen ist, wobei Methyl- und Ethylreste besonders bevorzugt sind. Am vorteilhaftesten ist der Einsatz von Methylestern. Die Methylester der Formel (I) können auf übliche Weise, z.B. durch Umesterung von Triglyceriden mit Methanol und anschließender Destillation, erhalten werden. Geeignete Fettsäuren sind die Capron-, Heptan-, Capryl-, Perlagon-, Caprin-, Undecan-, Laurin-, Tridecan-, Myristin-, Pentadecan-, Palmitin-, Heptadecan-, Stearin-, Nonadecan-, Arachin- und Behensäure. Ungesättigte Vertreter sind beispielsweise Lauroelein-, Myristolein-, Palmitolein-, Petroselaidin-, Öl-, Elaidin-, Ricinol-, Linol-, Linolaidin-, Linolen-, Gadolein-, Arachidon und Erucasäure. Auch Mischungen der Methylester dieser Säuren sind geeignet. Besonders bevorzugt ist die Verwendung solcher PIT-Emulsionen, die Methylester aus der Gruppe Methyloleat, Methylpamitat, Methylstearat und/oder Methylpelargonat enthalten. Es können aber auch Methylester auf Basis natürlicher Fettsäuremischungen eingesetzt werden, wie sie beispielsweise aus Lein-, Kokos-, Palm-, Palmkern-, Oliven-, Ricinus-, Rüb-, Soja- oder Sonnenblumenölen (bei Raps- und Sonnenblumenöl jeweils neue und alte Züchtungen) erhalten werden.

Geeignete Verbindungen der Gruppe b) sind native Öle pflanzlichen Ursprungs. Es handelt sich dabei im Wesentlichen um Triglyceridmischungen, wobei das Glycerin mit länger-kettigen Fettsäuren jeweils vollständig verestert ist. Besonders geeignete pflanzliche Öle sind ausgewählt aus der Gruppe Erdnuß-, Kokos- und/oder Sonnenblumenöl.

Erdnußöl enthält durchschnittlich (bezogen auf Fettsäure) 54 Gew.-% Ölsäure, 24 Gew.-% Linolsäure, 1 Gew.-% Linolensäure, 1 Gew.-% Arachinsäure, 10 Gew.-% Palmitinsäure, sowie 4 Gew.-% Stearinsäure. Der Schmelzpunkt beträgt 2 bis 3 °C.

Leinöl enthält typischerweise 5 Gew.-% Palmitin-, 4 Gew.-% Stearin-, 22 Gew.-% Öl-, 17 Gew.-% Linol- und 52 Gew.-% Linolensäure. Die Iodzahl liegt im Bereich von 155 bis 205, Die Verseifungszahl ist 188 bis 196 und der Schmelzpunkt liegt bei etwa - 20 °C.

Kokosöl enthält an Fettsäuren etwa 0,2 bis 1 Gew.-% Hexan-, 5 bis 8 Gew.-% Octan-, 6 bis 9 Gew.-% Decan-, 45 bis 51 Gew.-% Laurin-, 16 bis 19 Gew.-% Myristin-, 9 bis 11 Gew.-% Palmitin-, 2 bis 3 Gew.-% Stearin-, weniger als 0,5 Gew.-% Behen-, 8 bis 10 Gew.-% Öl- und bis 1 Gew.-% Linolsäure. Die Iodzahl liegt im Bereich von 7,5 bis 9,5, die Verseifungszahl liegt bei 0,88 bis 0,90. Der Schmelzpunkt liegt bei 20 bis 23 °C.

Olivenöl enthält überwiegend Ölsäure (vergl. Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem., 39, 112 bis 114, 1985). Palmöl enthält als Fettsäurekomponenten etwa 2 Gew.-% Myristin-, 42 Gew.-% Palmitin-, 5 Gew.-% Stearin-, 41 Gew.-% Öl-, 10 Gew.-% Linolsäure. Palmkernöl ist typischerweise in Bezug auf das Fettsäurespektrum wie folgt zusammengesetzt: 9 Gew.-% Capron/Capryl/Caprin-, 50 Gew.-% Laurin-, 15 Gew.-% Myristin-, 7 Gew.-% Palmitin-, 2 Gew.-% Stearin-, 15 Gew.-% Öl- und 1 Gew.-% Linolsäure.

Rapsöl enthält als Fettsäurekomponenten typischerweise etwa 48 Gew.-% Erucasäure, 15 Gew.-% Ölsäure, 14 Gew.-% Linolsäure, 8 Gew.-% Linolensäure, 5 Gew.-% Icosensäure, 3 Gew.-% Palmitinsäure, 2 Gew.-% Hexadecensäure und 1 Gew.-% Docosadiensäure. Rapsöl aus neuer Züchtung ist bezüglich der ungesättigten Anteile angereichert. Typische Fettsäureanteile sind hier Erucasäure 0,5 Gew.-%, Ölsäure 63 Gew.-%, Linolsäure 20 Gew.-%, Linolensäure 9 Gew.-%, Icosensäure 1 Gew.-%, Palmitinsäure 4 Gew.-%, Hexadecensäure 2 Gew.-% und Docosadiensäure 1 Gew.-%.

Ricinusöl besteht zu 80 bis 85 Gew.-% aus dem Glycerid der Ricinolsäure, daneben sind zu etwa 7 Gew.-% Glyceride der Öl-, zu 3 Gew.-% Glyceride der Linol- und zu etwa 2 Gew.-% die Glyceride der Palmitin- und der Stearinsäure enthalten.

Sojaöl enthält zu 55 bis 65 Gew.-% der Gesamtfettsäuren mehrfach ungesättigte Säuren, insbesondere Linol- und Linolensäure. Ähnlich ist die Situation beim Sonnenblumenöl, dessen typisches Fettsäurespektrum, bezogen auf Gesamtfettsäure wie folgt aussieht: ca. 1 Gew.-% Myristin-, 3 bis 10 Gew.-% Palmitin-, 14 bis 65 Gew.-% Öl- und 20 bis 75 Gew.-% Linolsäure.

Alle obigen Angaben über den Fettsäureanteile in den Triglyceriden sind bekanntermaßen abhängig von der Qualität der Rohstoffe und können daher zahlenmäßig schwanken. Besonders bevorzugt sind solche PIT-Emulsionen, die Nährstoffe der Gruppe b), ausgewählt aus der Gruppe Kokosöl, Sonnenblumenöl und/oder Rapsöl enthalten.

Wichtige Bestandteile der erfindungsgemäß verwendeten PIT-Emulsionen sind die eingesetzten Emulgatoren bzw. Emulgatorensysteme. Vorzugsweise werden als Emulgatoren nichtionische Emulgatoren, insbesondere ethoxylierte Fettalkohole und Fettsäuren eingesetzt. Zur Ausbildung von PIT-Emulsionen ist es vorteilhaft ein zweikomponentiges Emulgatorsystem, enthalten einen hydrophilen Emulgator (A) und einen hydrophoben Coemulgator (B) einzusetzen. Als hydrophiler nichtionische Emulgatoren (A) eignen sich Stoffe, die einen HLB-Wert von etwa 8 bis 18 aufweisen. Unter dem HLB-Wert (Hydrophil-Lipophil-Balance) soll ein Wert verstanden werden, der gemäß

$$\text{HLB} = (100 - L) / 5$$

errechnet werden kann, wobei L der Gewichtsanteil der lipophilen Gruppen, d.h. der Fettalkyl- oder Fettacylgruppen in Prozent in den Ethylenoxidanlagerungsprodukten ist.

Fettalkoholethoxylate im Sinne der erfindungsgemäßen Lehre folgen der allgemeinen Formel (II)

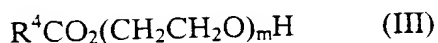


wobei R^3 für einen linearen oder verzweigten, gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 6 bis 24 Kohlenstoffatomen steht und n eine Zahl von 1 bis 50 bedeutet. Besonders bevorzugt sind solche Verbindungen der Formel (II), in der n für eine Zahl von 1 bis 35 und insbesondere von 1 bis 15 steht. Besonders bevorzugt sind weiterhin solche Verbindungen der Formel (II), in der R^3 für einen Alkylrest mit 16 bis 22 Kohlenstoffatomen steht.

Die Verbindungen der Formel (II) werden in an sich bekannter Weise durch Umsetzung von Fettalkoholen mit Ethylenoxid unter Druck, ggf. in Gegenwart saurer oder basischer Katalysatoren erhalten. Typische Beispiele sind Capronalkohol, Caprylalkohol, 2-Ethylhexylalkohol, Caprinalkohol, Laurylalkohol, Isotridecylalkohol, Myristylalkohol, Cetylalkohol, Palmoleylalkohol, Stearylalkohol, Isostearylalkohol, Oleylalkohol, Elaidylalkohol, Petroselinylalkohol, Linolylalkohol, Linolenylalkohol, Elaeostearylalkohol, Arachylalkohol, Gadoleylalkohol, Behenylalkohol, Erucylalkohol und Brassidylalkohol sowie deren technische Mischungen, die z.B. bei der Hochdruckhydrierung von technischen Methylestern auf Basis von Fetten und Ölen oder Aldehyden aus der Roelen'schen

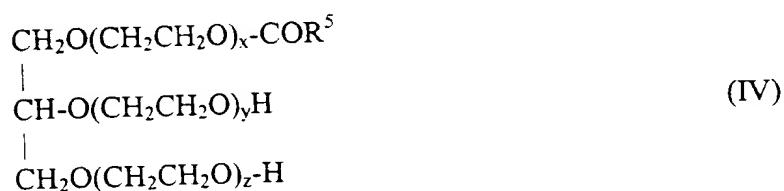
Oxosynthese sowie als Monomerfraktion bei der Dimerisierung von ungesättigten Fettalkoholen anfallen. Bevorzugt sind technische Fettalkohole mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen, wie beispielsweise Kokos-, Palm-, Palmkern- oder Talgfettalkohol.

Fettsäureethoxylate, die ebenfalls als Emulgatorkomponente (A) in Betracht kommen, folgen vorzugsweise der Formel (III),



in der R^4 für einen linearen oder verzweigten Alkylrest mit 12 bis 22 Kohlenstoffatomen und m für Zahlen von 5 bis 50 und vorzugsweise 15 bis 35 steht. Typische Beispiele sind Anlagerungsprodukte von 20 bis 30 Mol Ethylenoxid an Laurinsäure, Isotridecansäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Palmoleinsäure, Stearinsäure, Isostearinsäure, Ölsäure, Elaidinsäure, Petroselininsäure, Linolsäure, Linolensäure, Elaeostearinsäure, Arachinsäure, Gadoleinsäure, Behensäure und Erucasäure sowie deren technische Mischungen, die z.B. bei der Druckspaltung von natürlichen Fetten und Ölen oder bei der Reduktion von Aldehyden aus der Roelen'schen Oxosynthese anfallen. Vorzugsweise werden Anlagerungsprodukte von 20 bis 30 Mol Ethylenoxid an Fettsäuren mit 16 bis 18 Kohlenstoffatomen eingesetzt.

Partialglyceride, die als Emulgatorkomponente (B) in Betracht kommen, folgen vorzugsweise der Formel (IV),



in der $CO R^5$ für einen linearen oder verzweigten Acylrest mit 12 bis 22 Kohlenstoffatomen und x , y und z in Summe für 0 oder für Zahlen von 1 bis 50, vorzugsweise 15 bis 35 steht. Typische Beispiele für im Sinne der Erfindung geeignete Partialglyceride sind Laurinsäuremonoglycerid, Kokosfettsäuremonoglycerid, Palmitinsäuremonoglycerid, Stearinsäuremonoglycerid, Isostearinsäuremonoglycerid, Ölsäuremonoglycerid und Talgfettsäuremonoglycerid sowie deren Addukte mit 5 bis 50 und vorzugsweise 20 bis 30 Mol Ethylenoxid. Vorzugsweise werden Monoglyceride bzw. technische

Mono/Diglyceridgemische mit überwiegendem Monoglyceridanteil der Formel (IV) eingesetzt, in der CO R^5 für einen linearen Acylrest mit 16 bis 18 Kohlenstoffatomen steht.

Üblicherweise werden Emulgatormischungen eingesetzt, die die Komponenten (A) und (B) im Gewichtsverhältnis 10 : 90 bis 90 : 10, vorzugsweise 25 : 75 bis 75 : 25 und insbesondere 40 : 60 bis 60 : 40 enthalten.

Als weitere geeignete Emulgatoren kommen beispielsweise nichtionogene Tenside aus einer der folgenden Gruppen in Frage:

- (I) Anlagerungsprodukte von 2 bis 30 Mol Ethylenoxid und/ oder 0 bis 5 Mol Propylenoxid an lineare Fettalkohole mit 8 bis 22 C-Atomen;
- (II) Glycerinmono- und -diester und Sorbitanmono- und -diester von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mit 6 bis 22 Kohlenstoffatomen und deren Ethylenoxidanlagerungsprodukte;
- (III) Alkylmono- und -oligoglycoside mit 8 bis 22 Kohlenstoffatomen im Alkylrest und deren ethoxylierte Analoga;
- (IV) Anlagerungsprodukte von 15 bis 60 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes Ricinusöl;
- (V) Polyol- und insbesondere Polyglycerinester wie z.B. Polyglycerinpolyricinoleat oder Polyglycerinpoly-12-hydroxystearat. Ebenfalls geeignet sind Gemische von Verbindungen aus mehreren dieser Substanzklassen;
- (VI) Anlagerungsprodukte von 2 bis 15 Mol Ethylenoxid an Ricinusöl und/oder gehärtetes Ricinusöl;
- (VII) Partialester auf Basis linearer, verzweigter, ungesättigter bzw. gesättigter $\text{C}_{12/22}$ -Fettsäuren, Ricinolsäure sowie 12-Hydroxystearinsäure und Glycerin, Polyglycerin, Pentaerythrit, Dipentaerythrit, Zuckeralkohole (z.B. Sorbit) sowie Polyglucoside (z.B. Cellulose);
- (VIII) Wollwachsalkohole;
- (IX) Polyalkylenglycole.

Die Anlagerungsprodukte von Ethylenoxid und/oder von Propylenoxid an Glycerinmono- und -diester sowie Sorbitanmono- und -diester von Fettsäuren oder an Ricinusöl stellen bekannte, im Handel erhältliche Produkte dar. Es handelt sich dabei um Homologengemische, deren

mittlerer Alkoxylierungsgrad dem Verhältnis der Stoffmengen von Ethylenoxid und/oder Propylenoxid und Substrat, mit denen die Anlagerungsreaktion durchgeführt wird, entspricht.

Zur Auswahl geeigneter Emulgatorsysteme kann es zweckmäßig sein, rechnerisch die Ermittlung der PIT des jeweiligen Systems durchzuführen. Insbesondere gilt das aber auch für potentielle Optimierungen in der Auswahl der Emulgatoren beziehungsweise Emulgatorsysteme und ihrer Anpassung an die durch sonstige Überlegungen zum technischen Handeln vorgegebene Auswahl und Abmischung von wäßriger Phase einerseits und Typ der Ölphase andererseits. Entsprechendes Fachwissen ist aus an sich ganz anderen Bereichen, insbesondere aus dem Bereich der Kosmetika-Herstellung, entwickelt worden. Verwiesen wird insbesondere auf die Veröffentlichung TH.Förster, W.von Rybinski, H.Tesmann und A.Wadle "*Calculation of optimum emulsifier mixtures for phase inversion emulsification*", in International Journal of Cosmetic Science 16, 84-92 (1994). Dargestellt ist hier im einzelnen wie auf rechnerischem Weg für vorgegebene 3-Komponenten-Systeme aus einer Ölphase, einer Wasserphase und einem Emulgator auf der Basis des für die Ölphase charakteristischen EACN-Wertes (equivalent alkane carbon number) der Temperaturbereich der Phaseninversion (PIT) über die CAPICO-Methode (calculation of phase inversion in concentrates) errechnet werden kann. Diese Veröffentlichung Förster et al. bezieht insbesondere wiederum wesentliche Literatur für den hier angeschnittenen Themenkomplex ein, die im Zusammenhang mit der Offenbarung dieser Veröffentlichung Förster et al. zu sehen ist. Im einzelnen wird dann anhand zahlreicher Beispiele dargestellt, wie mittels der CAPICO-Methode im Rahmen des EACN-Konzepts die Auswahl und Optimierung der Emulgatoren/Emulgatorsysteme zur optimalen Einstellung vorgegebener Werte für den Temperaturbereich der Phaseninversion zugänglich wird.

Die erfindungsgemäß verwendeten PIT-Emulsionen enthalten vorzugsweise von 20 bis 90 Gew.-% Wasser, insbesondere von 30 bis 80 Gew.-% und ganz besonders bevorzugt von 30 bis 60 Gew.-%. Der Rest auf 100 Gew.-% entfällt auf die Ölphase sowie Emulgatoren und ggf. weitere Hilfs- und Zusatzstoffe. Die Ölphase selbst ist vorzugsweise in Mengen von 10 bis 80 Gew.-%, insbesondere von 40 bis 70 Gew.-% enthalten. Dabei enthält die Ölphase vorzugsweise ausschließlich die Komponenten a) oder b) bzw. Mischungen dieser Komponenten. Besonders bevorzugt ist die Verwendung solcher Emulsionen, die Öl- und Wasserphase im Gewichtsverhältnis von 1 : 1 enthalten. Die Emulgatoren, bzw. Emulgatorensysteme sind vorzugsweise in Mengen von 1 bis 25 Gew.-%, insbesondere in

Mengen von 5 bis 20 und besonders bevorzugt in Mengen von 5 bis 15 Gew.-% enthalten. Die erfindungsgemäß verwendeten Emulsionen weisen vorzugsweise Phaseninversionstemperaturen im Bereich von 20 bis 95 °C und insbesondere von 40 bis 95 °C auf.

Die beschriebenen PIT-Emulsionen können erfindungsgemäß in Fermentationsprozessen aller Art eingesetzt werden. Dabei können alle dem Fachmann bekannten Verfahrensausgestaltungen, z.B. Batch- oder Fed-Batch sowie kontinuierliche Fermentation verwendet werden. Auch sind alle dem Fachmann bekannten Fermentersysteme einsetzbar. Zu den Einzelheiten siehe *Crueger*, Seiten 50 bis 70. Die Verwendung der Mikroemulsionen ist auch nicht auf bestimmte Mikroorganismen begrenzt, vielmehr lassen sich die Emulsionen zur Herstellung oder Umwandlung aller dem Fachmann durch Fermentation bekannten Verbindungen einsetzen. Neben den klassischen Fermentationsverfahren, die überwiegend zu Synthese von Antibiotika eingesetzt werden, (vergl. *Crueger*, Seiten 197 bis 242) eignen sich die beschriebenen Emulsionen aber auch zum Einsatz bei mikrobiellen Transformationen ("Bioconversion"), z.B. der Transformation von Steroiden und Sterinen, von Antibiotika und Pestiziden oder der Herstellung von Vitaminen (vergl. *Crueger*, Seiten 254 bis 273). Bevorzugt ist aber die Verwendung in Fermentationsprozessen zur Herstellung von Antibiotika, beispielsweise Cephalosporinen, Tylosin oder Erythromycin.

In der Regel werden die Emulsionen der wäßrigen Fermentationsbrühe, welche die Mikroorganismen sowie die Stickstoffquelle und Spurenelemente und ggf. weitere Hilfsstoffe, insbesondere Entschäumer, enthält, in geeigneter Weise zudosiert. Als Stickstoffquellen kommen beispielsweise in Betracht: Pepton, Hefe- oder Malzextrakt, Maisquellwasser, Harnstoff oder Lecithine. Die Spurenelemente können in Form anorganischer Salze anwesend sein, beispielsweise Natrium- oder Kaliumnitrat, Ammoniumnitrat, Ammoniumsulfat, Eisensulfat etc. . Es kann auch vorteilhaft sein, den PIT-Emulsionen selbst weitere Zusatzstoffe, wie Entschäumer oder Stickstoffquellen zuzusetzen.

Beispiele

Es wurden verschiedene Emulsionen durch Mischen der Ausgangsstoffe und Erwärmen der Mischung über die PIT-Temperatur sowie nachfolgender Abkühlung auf Raumtemperatur (20 °C) hergestellt (Verfahren nach DE 38 19193 A1). Die PIT-Temperatur wurde durch Leitfähigkeitsmessung ermittelt. Die Tröpfchengröße wurde mit einem Coulter N4 Plus Submicron Particle Sizer gemessen. Der Meßwinkel betrug 90 °. Die Ergebnisse sind in Tabellen 1a und 1b aufgeführt. Diese Emulsionen eignen sich beispielsweise als alleinige Nährstoffquelle für Fermentationsprozessen und können direkt der wäßrigen Fermentationsbrühe zugesetzt werden.

Tabelle 1a

	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %
Rapsöl	34	45	45	45	45	40	40	45
Wasser	55	37	37	37	37	44	44	37
Ricinusöl, ethoxyliert mit 40 Mol EO pro Mol Ricinusöl	5	3						
Behenylalkohol + 10 EO	2,3		3	5	4	3	3	3
Glycerinoleat	3,7			2	1		1	
Hydriertes Ricinusöl, ethoxyliert mit 7 Mol EO pro Mol Ricinusöl		15	15	11	13	13	12	13
PIT	84°C	83°C	68°C	61°C	65°C	72°C	57°C	75°C
Tröpfchengröße	318 nm	293 nm	230 nm	187 nm	195 nm	229 nm	175 nm	269 nm

Tabelle 1b

	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %	Gew.- %
Methyleoleat	45	45			
Sonnenblumenöl				45	40
Kokosöl			34		
Wasser	45	45	55	37	44
C16/18 Fettalkohol + 12 EO	5	7			
Ricinusöl, ethoxyliert mit 40 Mol EO pro Mol Ricinusöl			4		
Behenylalkohol + 10 EO			2,8	3	3
Glycerinmonostearat		3			
Glycerinoleat			4,2		
Hydriertes Ricinusöl, ethoxyliert mit 7 Mol EO pro Mol Ricinusöl				15	12
C16-Fettalkohol + 6 EO	5				
PIT	73°C	74°C	62°C	68°C	57°C
Tröpfchengröße	201 nm	216 nm	156 nm	219 nm	180 nm

Patentansprüche

1. Verwendung von O/W-Emulsionen, enthaltend mindesten Wasser, Emulgatoren sowie ein Ölphase, die eine oder mehrere Verbindungen, ausgewählt aus den Gruppen

- a) der Fettsäurealkylester und/oder
- b) der Triglyceride pflanzlichen Ursprungs

enthält, dadurch gekennzeichnet, daß die Emulsion nach dem PIT-Verfahren hergestellt wird und eine Tröpfchengröße von 50 bis 400 nm aufweist, in Fermentationsverfahren.

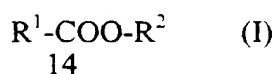
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Ölphase als Komponente a) Fettsäuremethylester enthält.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die eine mittlere Tröpfchengröße im Bereich von 100 bis 300 nm, vorzugsweise 180 bis 300 nm und insbesondere von 160 bis 250 nm aufweisen.

4. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die Wasser in Mengen von 20 bis 90 Gew.-%, vorzugsweise von 30 bis 80 Gew.-% und insbesondere von 30 bis 60 Gew.-% enthalten.

5. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die Ölphase in Mengen von 10 bis 80 Gew.-%, vorzugsweise 40 bis 70 Gew.-% enthalten.

6. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die Fettsäuremethylester der Formel (I) enthalten,



wobei R^1 für eine Alkylrest mit 6 bis 22 C-Atomen steht und R^2 einen Methylrest bedeutet.

7. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die in der Ölphase Methyloleat, Methylpalmitat, Methylstearat und/oder Methylpelargonat enthalten.
8. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die in der Ölphase Kokos-, Sonnenblumen- und/oder Rapsöl enthalten.
9. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die ein Emulgatorsystem, enthaltend hydrophile Emulgatoren mit HLB-Werten von 8 bis 18 in Kombination mit hydrophoben Coemulgatoren enthalten.
10. Verwendung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, deren Emulgatorsysteme Mengenverhältnisse zwischen hydrophilen Emulgatoren und Coemulgatoren von 10 : 90 bis 90 : 10 aufweisen.
11. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß Emulsionen verwendet werden, die Emulgatoren in Mengen von 1 bis 25 Gew.-%, vorzugsweise in Mengen von 5 bis 20 Gew.-% und insbesondere in Mengen von 5 bis 15 Gew.-% enthalten.



A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N1/26 C12N1/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 41 40 562 A (HENKEL KGAA) 17 June 1993 (1993-06-17) cited in the application the whole document	1-11
A	EP 0 558 112 A (UNILEVER N.V.) 1 September 1993 (1993-09-01) column 1, line 47 - column 2, line 1 column 2, line 28 - line 37 column 3, line 56 - column 4, line 34	1-11
A	US 4 871 665 A (HOLGER VIEHWEG) 3 October 1989 (1989-10-03) column 2, line 60 - column 6, line 28	1-11



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 August 2000

Date of mailing of the international search report

16/08/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Montero Lopez, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/04365

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4140562	A	17-06-1993	DE 59203503 D	05-10-1995
			WO 9311865 A	24-06-1993
			EP 0618840 A	12-10-1994
			ES 2075722 T	01-10-1995
			JP 7501486 T	16-02-1995
EP 558112	A	01-09-1993	CA 2090750 A	26-08-1993
			JP 6080984 A	22-03-1994
US 4871665	A	03-10-1989	DE 3545246 A	25-06-1987
			AT 75259 T	15-05-1992
			DE 3685014 A	27-05-1992
			EP 0229990 A	29-07-1987
			JP 1979330 C	17-10-1995
			JP 7004263 B	25-01-1995
			JP 62163696 A	20-07-1987
			NO 865188 A, B,	22-06-1987

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12N1/26 C12N1/20

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETERecherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12N C12P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 41 40 562 A (HENKEL KGAA) 17. Juni 1993 (1993-06-17) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-11
A	EP 0 558 112 A (UNILEVER N.V.) 1. September 1993 (1993-09-01) Spalte 1, Zeile 47 - Spalte 2, Zeile 1 Spalte 2, Zeile 28 - Zeile 37 Spalte 3, Zeile 56 - Spalte 4, Zeile 34	1-11
A	US 4 871 665 A (HOLGER VIEHWEG) 3. Oktober 1989 (1989-10-03) Spalte 2, Zeile 60 - Spalte 6, Zeile 28	1-11



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

8. August 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

16/08/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Montero Lopez, B

INTERNATIONAL RESEARCH REPORT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/04365

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 4140562 A	17-06-1993	DE 59203503 D WO 9311865 A EP 0618840 A ES 2075722 T JP 7501486 T	05-10-1995 24-06-1993 12-10-1994 01-10-1995 16-02-1995
EP 558112 A	01-09-1993	CA 2090750 A JP 6080984 A	26-08-1993 22-03-1994
US 4871665 A	03-10-1989	DE 3545246 A AT 75259 T DE 3685014 A EP 0229990 A JP 1979330 C JP 7004263 B JP 62163696 A NO 865188 A, B,	25-06-1987 15-05-1992 27-05-1992 29-07-1987 17-10-1995 25-01-1995 20-07-1987 22-06-1987

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts H 4157PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 04365	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 16/05/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 25/05/1999
Anmelder COGNIS DEUTSCHLAND GMBH		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 2 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbaren **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. —

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☐ keine der Abb.



11

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N1/26 C12N1/20

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N C12P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 41 40 562 A (HENKEL KGAA) 17. Juni 1993 (1993-06-17) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ---	1-11
A	EP 0 558 112 A (UNILEVER N.V.) 1. September 1993 (1993-09-01) Spalte 1, Zeile 47 - Spalte 2, Zeile 1 Spalte 2, Zeile 28 - Zeile 37 Spalte 3, Zeile 56 - Spalte 4, Zeile 34 ---	1-11
A	US 4 871 665 A (HOLGER VIEHWEG) 3. Oktober 1989 (1989-10-03) Spalte 2, Zeile 60 - Spalte 6, Zeile 28 -----	1-11



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung befragt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

8. August 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

16/08/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Montero Lopez, B



11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/00/04365

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4140562	A	17-06-1993	DE 59203503 D	05-10-1995
			WO 9311865 A	24-06-1993
			EP 0618840 A	12-10-1994
			ES 2075722 T	01-10-1995
			JP 7501486 T	16-02-1995
<hr/>				
EP 558112	A	01-09-1993	CA 2090750 A	26-08-1993
			JP 6080984 A	22-03-1994
<hr/>				
US 4871665	A	03-10-1989	DE 3545246 A	25-06-1987
			AT 75259 T	15-05-1992
			DE 3685014 A	27-05-1992
			EP 0229990 A	29-07-1987
			JP 1979330 C	17-10-1995
			JP 7004263 B	25-01-1995
			JP 62163696 A	20-07-1987
			NO 865188 A, B,	22-06-1987
<hr/>				



11



DEUTSCHES
PATENTAMT

- 21 Aktenzeichen: P 41 40 562.5
22 Anmeldetag: 9. 12. 91
43 Offenlegungstag: 17. 6. 93

DE 41 40 562 A 1

54 Anmelder:

Henkel KGaA, 4000 Düsseldorf, DE

72 Erfinder:

Förster, Thomas, Dr., 4006 Erkrath, DE; Claas,
Marcus, 4010 Hilden, DE; Wachter, Rolf, Dr.;
Tessmann, Holger, Dr., 4000 Düsseldorf, DE

54 Verfahren zur Herstellung von Öl-in-Wasser-Emulsionen

57 Feindisperse und langzeitstabile Öl-in-Wasser-Emulsionen auf Basis von Ölmischungen mit einem hohen Anteil an polaren Ölkompontenten lassen sich dadurch herstellen, daß man

- (A) 10 bis 90 Gew.-% eines polaren Ölkörpers mit
(B) 0,5 bis 30 Gew.-% eines nichtionischen Emulgators mit einem HLB-Wert von 10 bis 18 und
(C) 0 bis 30 Gew.-% eines Co-Emulgators aus der Gruppe der Fettalkohole mit 12 bis 22 C-Atomen oder der Partialester von Polyolen mit 3 bis 6 C-Atomen mit Fettsäuren mit 12 bis 22 C-Atomen und
(D) 0,01 bis 50 Gew.-% eines Grenzflächen-Moderators, der ausgewählt ist aus der Gruppe der Tocopherole, der Guerberalkohole mit 16 bis 20 C-Atomen oder eines Steroids mit 1 bis 3 OH-Gruppen

in Gegenwart von 8 bis 85 Gew.-% Wasser bei einer Temperatur oberhalb des Schmelzpunktes des Gemisches aus den Komponenten (A) bis (D) emulgiert und die Emulsion auf eine Temperatur innerhalb oder oberhalb des Phaseninversions-Temperaturbereichs erhitzt - oder die Emulsion bei dieser Temperatur herstellt - und dann die Emulsion auf eine Temperatur unterhalb des Phaseninversionstemperaturbereichs abkühlt und gegebenenfalls mit Wasser weiter verdünnt.

DE 41 40 562 A 1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Öl-in-Wasser-Emulsionen auf Basis von Ölmischungen mit einem hohen Anteil an polaren Ölkomponten unter Bedingungen, die zu feindispersen und langzeitstabilen Emulsionen führen.

Es ist bekannt, daß Öl-in-Wasser-Emulsionen, fortan O/W-Emulsionen genannt, die mit nichtionischen Emulgatoren hergestellt und stabilisiert sind, beim Erwärmen eine Phaseninversion erleiden. Unter diesem Vorgang der Phaseninversion ist zu verstehen, daß bei höheren Temperaturen die äußere, wäßrige Phase zur inneren Phase wird. Dieser Vorgang ist in der Regel reversibel, das heißt, daß sich beim Abkühlen wieder der ursprüngliche Emulsionstyp zurückbildet. Es ist auch bekannt, daß die Lage der Phaseninversionstemperatur von vielen Faktoren abhängt, zum Beispiel von der Art und dem Phasenvolumen der Ölkomponten, von der Hydrophilie und der Struktur des Emulgators oder der Zusammensetzung des Emulgatorsystems, vergleiche zum Beispiel ff. Shinoda und H. Kunieda In Encyclopedia of Emulsion Technology, Volume I, P. Becher (Hrsg.), Verlag Marcel Dekker, New York 1983, S. 337 ff. Es ist auch bekannt, daß O/W-Emulsionen, die bei oder wenig oberhalb der Phaseninversionstemperatur hergestellt werden, besonders feindispers sind und sich durch Langzeit-Stabilität auszeichnen. Demgegenüber sind solche Emulsionen, die unterhalb der Phaseninversionstemperatur hergestellt werden, weniger feinteilig, vergleiche S. Friberg, C. Solans, J. Colloid Interface Science 1978 (66) 367 f.

F. Schambil, F. Jost und M. J. Schwuger berichten In "Progress and Colloid and Polymer Science" 1987 (73) 37 über die Eigenschaften kosmetischer Emulsionen, die Fettalkohole und Fettalkoholpolyglykolether enthalten. Dabei beschreiben sie, daß Emulsionen, die oberhalb der Phaseninversionstemperatur hergestellt wurden, eine niedrige Viskosität und eine hohe Lagerstabilität aufweisen.

In den genannten Druckschriften wurden jedoch nur Emulsionen untersucht, deren Ölphase ganz oder überwiegend aus unpolaren Kohlenwasserstoffen besteht. Demgegenüber verhalten sich entsprechende Emulsionen, deren Ölkomponten ganz oder überwiegend aus polaren Estern oder Triglyceridölen besteht, anders: entweder werden (a) trotz einer Phaseninversion keine feinteiligen, blauen Emulsionen gebildet, sondern grobdisperse weiße Emulsionen oder aber es findet (b) im Temperaturbereich bis 100°C überhaupt keine Phaseninversion statt.

Die deutsche Patentanmeldung DE-OS-38 19 193 beschreibt ein Verfahren zur Herstellung niedrigviskoser O/W-Emulsionen polarer Ölkomponten, das auf der Methode der Phaseninversionstemperatur (PIT-Methode) beruht. Nach der Lehre dieser Anmeldung werden Phaseninversionstemperaturen unterhalb 100°C dadurch erreicht, daß neben nichtionischen Emulgatoren weitere Co-Emulgatoren vorhanden sind. Es wurde jedoch gefunden, daß bei Ölen mit einem Dipolmoment oberhalb von 1,96 D nach diesem Verfahren nur grobteilige Dispersionen zugänglich sind. Dies steht in Einklang mit der Publikation von T. Förster, F. Schambil und H. Tesmann, die die Emulgierung nach der PIT-Methode im Hinblick auf selbstemulgierende Tenside und die Polarität des zu emulgierenden Öls untersucht haben (International Journal of Cosmetic Science 1990 (12) 217). Auf Seite 222 führen die Autoren aus, daß das Vorliegen einer Phaseninversion keine Garantie dafür ist, daß feinteilige und lagerstabile Emulsionen erhalten werden.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, ein verbessertes Verfahren zur Herstellung feindisperser und langzeitstabiler O/W-Emulsionen auf Basis von Ölmischungen mit einem hohen Anteil an polaren Ölkomponten zu entwickeln. Insbesondere sollte ein Verfahren bereitgestellt werden, mit dem feindisperse und lagerstabile O/W-Emulsionen auf Basis von Ölen mit einem Dipolmoment oberhalb von 1,96 D hergestellt werden können.

Es wurde nun überraschend gefunden, daß O/W-Emulsionen auf Basis polarer Ölkörper und nichtionischer Emulgatoren dann besonders feinteilig und langzeitstabil sind, wenn man eine Mischung aus polarem Öl, nichtionischem Emulgator und einem speziellen Grenzflächen-Moderator auf eine Temperatur innerhalb oder oberhalb des Phaseninversions-Temperaturbereiches erhitzt — oder die Emulsion bei dieser Temperatur herstellt — und dann die Emulsion auf eine Temperatur unterhalb des Phaseninversion-Temperaturbereiches abkühlt und gegebenenfalls mit Wasser weiterverdünnt.

Gegenstand der Erfindung ist daher ein Verfahren zur Herstellung von Ölin-Wasser-Emulsionen von polaren Ölkörpern (A), dadurch gekennzeichnet, daß man

A) 10 bis 90 Gew.-% eines polaren Ölkörpers mit

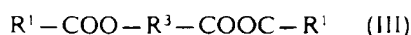
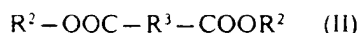
B) 0,5 bis 30 Gew.-% eines nichtionischen Emulgators mit einem HLB-Wert von 10 bis 18 und

C) 0 bis 30 Gew.-% eines Co-Emulgators aus der Gruppe der Fettalkohole mit 12 bis 22 C-Atomen oder der Partialester von Polyolen mit 3 bis 6 C-Atomen mit Fettsäuren mit 12 bis 22 C-Atomen und

D) 0,01 bis 50 Gew.-% eines Grenzflächen-Moderators, der ausgewählt ist aus der Gruppe der Tocopherole, der Guerbetalkohole mit 16 bis 20 C-Atomen oder eines Steroids mit 1 bis 3 OH-Gruppen in Gegenwart von 8 bis 85 Gew.-% Wasser bei einer Temperatur oberhalb des Schmelzpunktes des Gemisches aus den Komponenten (A) bis (D) emulgiert und die Emulsion auf eine Temperatur innerhalb oder oberhalb des Phaseninversionstemperaturbereiches erhitzt — oder die Emulsion bei dieser Temperatur herstellt — und dann die Emulsion auf eine Temperatur unterhalb des Phaseninversions-Temperaturbereiches abkühlt und gegebenenfalls mit Wasser weiter verdünnt.

Das erfindungsgemäße Verfahren hat den Vorteil, daß besonders feinteilige, Emulsionen erhalten werden, die eine ausgezeichnete Lagerstabilität aufweisen. Im Vergleich zum bekannten Stand der Technik, z. B. der DE-OS-38 19 193, wird darüber hinaus die Phaseninversionstemperatur gesenkt, was in der Praxis wegen der damit verbundenen Energie-Einsparung besonders günstig ist.

Als polare Ölkörper (A) eignen sich Mono- und Diester der allgemeinen Formeln (I), (II) und (III)



worin R^1 eine Alkylgruppe mit 8 bis 22 C-Atomen und R^2 eine Alkylgruppe mit 3 bis 22 C-Atomen und R^3 Alkylengruppen mit 2 bis 16 C-Atomen bedeuten und die mindestens 11 und höchstens 40 C-Atome enthalten.

Ölkörper vom Typ der Mono- und Diester der Formeln (I), (II) und (III) sind als kosmetische und pharmazeutische Ölkörper sowie als Gleit- und Schmiermittelkomponenten bekannt. Unter den Mono- und Diestern dieser Art kommt den bei Raumtemperatur (20°C) flüssigen Produkten die größte Bedeutung zu. Als Ölkörper geeignete Monoester (I) sind z. B. die Isopropylester von Fettsäuren mit 12–22 C-Atomen, wie z. B. Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat, Isopropylstearat, Isopropyloleat. Andere geeignete Monoester sind z. B. n-Butylstearat, n-Hexyllaurat, n-Decyloleat, Isooctylstearat, Isononylpalmitat, Isononyl-isononanoat, 2-Ethylhexylpalmitat, 2-Ethylhexyl-laurat, 2-Hexyldecylstearat, 2-Octyldodecylpalmitat, Oleyloleat, Oleylerucat, Erucyloleat sowie Ester, die aus technischen aliphatischen Alkoholgemischen und technischen aliphatischen Carbonsäuren erhältlich sind, z. B. Ester aus gesättigten und ungesättigten Fettalkoholen mit 12–22 C-Atomen und gesättigten und ungesättigten Fettsäuren mit 12–22 C-Atomen, wie sie aus tierischen und pflanzlichen Fetten zugänglich sind. Geeignet sind auch natürlich vorkommende Monoester- bzw. Wachsester-Gemische, wie sie z. B. im Jojobaöl oder im Spermöl vorliegen.

Geeignete Dicarbonsäureester (II) sind z. B. Di-n-butyl-adipat, Di-n-butylsebacat, Di-(2-ethylhexyl)-adipat, Di-(2-hexyldecyl)-succinat und Di-isotridecylacelaat. Geeignete Diolester (III) sind z. B. Ethylenglykol-dioleat, Ethylenglykol-di-isotridecanoat, Propylenglykoldi(2ethylhexanoat), Propylenglykol-di-isostearat, Propylenglykol-di-pelargonat, Butandiol-di-isostearat und Neopentylglykol-di-caprylat.

Als Ölkörper gut geeignet sind ferner Ester von drei- und mehrwertigen Alkoholen, insbesondere pflanzliche Triglyceride, z. B. Olivenöl, Mandelöl, Erdnußöl, Sonnenblumenöl oder auch die Ester des Pentaerythrits mit z. B. Pelargonsäure oder Ölsäure.

Als Fettsäuretriglyceride können natürliche, pflanzliche Öle, z. B. Olivenöl, Sonnenblumenöl, Sojaöl, Erdnußöl, Rapsöl, Mandelöl, Palmöl, aber auch die flüssigen Anteile des Kokosöls oder des Palmkernöls sowie tierische Öle, wie z. B. Klauenöl, die flüssigen Anteile des Rindertalg oder auch synthetische Triglyceride, wie sie durch Veresterung von Glycerin mit Fettsäuren mit 8–22 C-Atomen erhalten werden, z. B. Triglyceride von Caprylsäure-Caprinsäure-Gemischen, Triglyceride aus technischer Ölsäure oder aus Palmitinsäure-Ölsäure-Gemischen.

Bevorzugt eignen sich solche Mono- und Diester und Triglyceride als Ölkörper für das erfindungsgemäße Verfahren, die bei Normaltemperatur von 20°C flüssig sind, es können aber auch höherschmelzende Fette und Ester, die den angegebenen Formeln entsprechen, in solchen Mengen mitverwendet werden, daß die Mischung der Ölkörper bei Normaltemperatur flüssig bleibt.

Die Ölkörper können auch Kohlenwasserstofföle in untergeordneten Mengen bis zu maximal 25 Gew.-%, bezogen auf die Ölkörper, enthalten. Geeignete Kohlenwasserstoffe sind vor allem Paraffinöle und synthetisch hergestellte Kohlenwasserstoffe, z. B. flüssige Polyolefine oder definierte Kohlenwasserstoffe, z. B. Alkylcyclohexane, wie z. B. das 1,3-Di-isooctylcyclohexan.

Unter den Ölkörpern (A) verdienen diejenigen besondere Beachtung, die ein Dipolmoment oberhalb von 1,96 D aufweisen, weil bei diesen Ölen die Herstellung feinteiliger statt grobteiliger O/W-Emulsionen durch das erfindungsgemäße Verfahren überhaupt erst möglich wird. Diese Gruppe der Ölkörper (A) kann insbesondere durch ein Dipolmoment im Bereich von 2,0 bis 3,6 D charakterisiert werden. Beispiele dafür sind Decyloleat (2,19 D), Capryl/Caprinsäuretriglycerid (2,78 D) und Mandelöl (3,16 D).

Die polaren Ölkörper (A) werden in den erfindungsgemäßen O/W-Emulsionen in einer Menge von 10 bis 90 Gewichtsteilen, vorzugsweise von 20 bis 60 Gewichtsteilen eingesetzt.

Als nichtionische Emulgatoren (B) geeignete Substanzen sind gekennzeichnet durch eine lipophile, bevorzugt lineare Alkyl- oder Acylgruppe und eine hydrophile, aus niedermolekularen Glycol-, Glucose- und Polyolethern gebildete Gruppe.

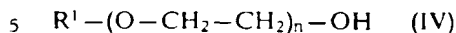
Die nichtionischen Emulgatoren (B) werden in den erfindungsgemäßen O/W-Emulsionen in einer Menge von 0,5 bis 30 Gewichtsteilen, vorzugsweise von 3 bis 20 Gewichtsteilen eingesetzt.

Als nichtionische Emulgatoren (B) eignen sich insbesondere Ethylenoxidanlagerungsprodukte an Fettalkohole mit 16–22 C-Atomen. Derartige Produkte sind handelsüblich. Die technischen Produkte stellen Gemische homologer Polyglycolether der Ausgangsfettalkohole dar, deren mittlerer Oxethylierungsgrad der angelagerten Molmenge an Ethylenoxid entspricht. Als Emulgatoren können auch Ethylenoxidanlagerungsprodukte an Partialester aus einem Polyol mit 3–6 C-Atomen und Fettsäuren mit 14–22 C-Atomen verwendet werden. Solche Produkte werden z. B. durch Ethoxylierung von Fettsäurepartialglyceriden oder von Mono- und Di-Fettsäureestern des Sorbitans, z. B. von Sorbitanmonostearat oder Sorbitansesquioleat hergestellt. Die für das erfindungsgemäße Verfahren geeigneten Emulgatoren sollen einen HLB-Wert von 10 bis 18 aufweisen. Unter dem HLB-Wert (Hydrophil-Lipophil-Balance) soll ein Wert verstanden werden, der errechnet werden kann gemäß

$$\text{HLB} = \frac{100 - L}{5}$$

worin L der Gewichtsanteil der lipophilen Gruppen, d. h. der Fettalkyl- oder Fettacylgruppen in Prozent in den Ethylenoxidanlagerungsprodukten ist.

Bevorzugt eignen sich als Emulgatoren (B) Fettalkoholpolyglykolether (B1) der allgemeinen Formel (IV)



in der R^1 einen gesättigten oder ungesättigten, geradkettigen oder verzweigten Kohlenwasserstoffrest mit 8 bis 22 C-Atomen, vorzugsweise 12 bis 18 C-Atomen und n eine ganze Zahl von 10 bis 50, vorzugsweise von 10 bis 30, bedeutet, sowie Anlagerungsprodukte von 4 bis 20 Mol Ethylenoxid an ein oder mehrere Fettsäurepartialglyceride (B2).

Unter Fettsäurepartialglyceriden (B2) von gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren mit 10 bis 20 C-Atomen sind dabei technische Gemische von Fettsäuremono-, di- und triglyceriden zu verstehen, die durch Veresterung von 1 Mol Glycerin mit 1 bis 2 Mol einer (C_{10-20})-Fettsäure oder durch Umesterung von 1 Mol eines (C_{10-20})-Fettsäuretriglycerids, z. B. von Rindertalg, Schweineschmalz, Palmöl, Sonnenblumenöl oder Sojaöl mit 0,5 bis 2 Mol Glycerin erhalten werden. Handelsüblich sind zwei Typen von Partialglyceriden. Partialglyceride des Typs I enthalten 35 bis 60% Monoglyceride, 35 bis 50% Diglyceride und 1 bis 20% Triglyceride. Partialglyceride des Typs II werden durch Molekulardestillation aus solchen des Typs I hergestellt und enthalten 90 bis 96% Monoglyceride, 1 bis 5% Diglyceride und weniger als 1% Triglyceride (vergl. dazu: a) G. Schuster und N. Adams: Zeitschrift für Lebensmitteltechnologie, 1979, Band 30(6), S. 256—264; b) G. Schuster (Hrsg.) "Emulgatoren für Lebensmittel", Springer-Verlag, 1985). Die erfindungsgemäß verwendeten Fettsäurepartialglyceride sollen 35 bis 96% Monoglyceride, 1 bis 50% Diglyceride und 0,1 bis 20% Triglyceride enthalten.

Bevorzugt geeignet als Emulgatoren sind Anlagerungsprodukte von 8—12 Mol Ethylenoxid an gesättigte Fettalkohole mit 16—22 C-Atomen. Zur erfindungsgemäßen Emulgierung von Ölkomponenten, die keine unpolaren Kohlenwasserstofföle enthalten, die also aus 50—100 Gew.-% Mono- und Diestern der Formeln I, II und III und 0—50 Gew.-% Fettsäuretriglyceriden bestehen, eignen sich als Emulgatoren insbesondere Anlagerungsprodukte von 8—12 Mol Ethylenoxid an einen gesättigten Fettalkohol mit 18—22 C-Atomen.

Zusätzlich zum Emulgator kann in vielen Fällen ein Co-Emulgator (C) zur Herstellung der Öl-in-Wasser-Emulsionen nach dem erfindungsgemäßen Verfahren nützlich sein. Als Coemulgatoren sind erfindungsgemäß solche vom Typ der Fettalkohole mit 16—22 C-Atomen, z. B. Cetylalkohol, Stearylalkohol, Arachidylalkohol oder Behenylalkohol oder Gemische dieser Alkohole geeignet, wie sie bei der technischen Hydrierung von pflanzlichen und tierischen Fettsäuren mit 16—22 C-Atomen oder der entsprechenden Fettsäuremethylester erhalten werden. Weiterhin eignen sich als Coemulgatoren Partialester aus einem Polyol mit 3—6 C-Atomen und Fettsäuren mit 14—22 C-Atomen. Solche Partialester sind z. B. die Monoglyceride von Palmitin- und/oder Stearinsäure, die Sorbitanmono- und/oder -diester von Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure oder von Mischungen dieser Fettsäuren, die Monoester aus Trimethylolpropan, Erythrit oder Pentaerythrit und gesättigten Fettsäuren mit 14—22 C-Atomen. Als Monoester werden auch die technischen Monoester verstanden, die durch Veresterung von 1 Mol Polyol mit 1 Mol Fettsäure erhalten werden und die ein Gemisch aus Monoester, Diester und unverestertem Polyol darstellen.

Besonders gut eignen sich für das erfindungsgemäße Verfahren als Co-Emulgatoren Cetylalkohol, Stearylalkohol oder ein Glycerin-, Sorbitan- oder Trimethylolpropan-Monoester einer Fettsäure mit 14—22 C-Atomen oder Gemische dieser Stoffe.

Die Co-Emulgatoren (C) werden in den erfindungsgemäßen O/W-Emulsionen in einer Menge von 0 bis 30 Gewichtsteilen, vorzugsweise von 1 bis 20 Gewichtsteilen eingesetzt.

Der Grenzflächen-Moderator (D) wird ausgewählt aus der Gruppe der Tocopherole, der Guerbetalkohole oder eines Steroids mit 1 bis 3 OH-Gruppen. Unter Tocopherolen sind Naturstoffe mit Vitamin E-Charakter zu verstehen, die sich vom 2-Methyl-2-(4',8',12'-trimethyltridecyl)-chroman-6-ol, dem sogenannten Tocol, ableiten. Die Kennzeichnung erfolgt mit griechischen Buchstaben (vergl. "Römpps Chemie-Lexikon", O.-A. Neumüller (Hrsg.), 7. Aufl., Stuttgart 1977, S. 3615f). Besonders bevorzugt im Sinne der Erfindung ist α -Tocopherol, das am häufigsten vorkommende und technische bedeutendste Tocopherol, das vielfach auch als das eigentliche Vitamin E bezeichnet wird. Unter Guerbetalkoholen sind spezielle verzweigte Alkohole zu verstehen (vergl. z. B. A.J. O'Lenick Jr., R.E. Bilbo, Soap Cosm. Chem. Spec. 1987 (4) 52). Die erfindungsgemäß einzusetzenden Guerbetalkohole sollen 16 bis 20 C-Atome aufweisen, wie z. B. 2-Hexyldecanol oder 2-Octyldodecanol. Als besonders geeignet hat sich 2-Octyldodecanol erwiesen. Unter Steroiden ist eine Gruppe von natürlich auftretenden oder synthetisch gewonnenen Verbindungen zu verstehen, denen das Gerüst des (partiell) hydrierten Cyclopenta(a)phenanthrens zugrunde liegt, vergl. z. B. O.A. Neumüller, Römpps Chemie-Lexikon, 7. Aufl., Stuttgart 1975, S. 3336 ff. Die erfindungsgemäß einzusetzenden Steroide sollen 1 bis 3 OH-Gruppen aufweisen. Besonders geeignet sind die Sterine, bei denen sich am dritten C-Atom des Steroidgerüsts eine OH-Gruppe befindet. Die Sterine treten in allen tierischen und pflanzlichen Zellen auf. Nach ihrem Vorkommen teilt man sie in Zoosterine, z. B. Cholesterin, und Phytosterine, die vorwiegend in höheren Pflanzen vorkommen, auf. Ein besonders geeignetes Steroid ist Cholesterin.

Der Wirkungsweise des Grenzflächen-Moderators beruht wahrscheinlich darauf, daß er wie das zu emulgierende Öl eine hydrophobe Grundstruktur aufweist, diese jedoch durch die sehr polare OH-Gruppe modifiziert ist, die in der Lage ist, in Gegenwart von Wasser, Wasserstoffbrücken auszubilden.

Der Grenzflächen-Moderator (D) wird in den erfindungsgemäßen O/W-Emulsionen in einer Menge von 0,01 bis 50 Gew.-%, vorzugsweise von 0,1 bis 30 Gew.-% und insbesondere von 0,5 bis 15 Gew.-% eingesetzt. Dabei werden besonders gute Ergebnisse im Sinne der Erfindung dann erhalten, wenn das Gewichts-Verhältnis von Ölkörper (A) und Grenzflächen-Moderator (D) im Bereich von 1 : 0,1 bis 1 : 1 liegt.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann in der Weise durchgeführt werden, daß zunächst die Phaseninversion-

temperatur bestimmt wird, indem man eine Probe der auf übliche Weise hergestellten Emulsion unter Verwendung eines Leitfähigkeitsmeßgerätes erhitzt und die Temperatur bestimmt, bei der die Leitfähigkeit stark abnimmt. Die Abnahme der spezifischen Leitfähigkeit der zunächst vorhandenen Öl-in-Wasser-Emulsion nimmt üblicherweise über einen Temperaturbereich von 2–8° C von anfänglich über 1 Millisiemens pro cm (mS/cm) auf Werte unter 0,1 mS/cm ab. Dieser Temperaturbereich wird hier als Phaseninversions-Temperaturbereich (PIT-Bereich) bezeichnet.

Nachdem der PIT-Bereich bekannt ist, kann man das erfindungsgemäße Verfahren entweder in der Weise durchführen, daß man die zunächst wie üblich hergestellte Emulsion nachträglich auf eine Temperatur erhitzt, die innerhalb oder oberhalb des Phaseninversions-Temperaturbereichs liegt, oder in der Weise, daß man bereits bei der Herstellung der Emulsion eine Temperatur wählt, die innerhalb oder oberhalb des Phaseninversions-Temperaturbereichs liegt. Es ist auch möglich ein wasserfreies oder wasserarmes Konzentrat bei der Phaseninversions-Temperatur mit heißem oder kaltem Wasser zu verdünnen (Heiß-Heiß- oder Heiß-Kalt-Verfahren).

Öl-in-Wasser-Emulsionen, wie sie nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhalten werden, finden Anwendung z. B. als Haut- und Körperpflegemittel, als Kühlschmiermittel oder als Textil- und Faserhilfsmittel. Besonders bevorzugt ist das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung emulsionsförmiger Zubereitungen für die Haut- und Haarbehandlung geeignet.

Die folgenden Beispiele dienen der Erläuterung der Erfindung und sind nicht einschränkend zu verstehen.

Beispiele

1. Allgemeines

1.1. Abkürzungen/Konventionen

In den Kopfzeilen der Tabellen 1 bis 4 sind die Beispiele mit B1 bis B10, die Vergleiche mit V1 bis V4 kenntlich gemacht. Die Werte für das Dipolmoment der Ölkörper wurden dabei in der üblichen Einheit Debye angegeben. In den Tabellen ist:

- a) die Menge der verwendeten Substanzen stets in Gew.-%,
- b) die Art der Emulsion als fein- oder grobteilig und
- c) der PIT-Bereich durch eine untere und obere Temperatur angegeben.

1.2. Verwendete Substanzen

a) polare Ölkörper (A)

IPM: Isopropylmyristat ("Rilanit® IPM"; Fa. Henkel/Düsseldorf),
Cetiol V: Decyloleat ("Cetiol® V"; Fa. Henkel/Düsseldorf),
Myritol 318: Capryl/Caprinsäuretriglycerid ("Myritol® 318"; Fa. Henkel/Düsseldorf).

b) nichtionische Emulgatoren (B)

Eumulgin B1: Anlagerungsprodukt von 12 mol Ethylenoxid an 1 mol Cetostearylalkohol; CTFA-Bezeichnung: Ceteareth-12 ("Eumulgin® B1"; Fa. Henkel/Düsseldorf)

c) Co-Emulgatoren (C)

Lanette O: C_{16/18}-Fettalkohol; CTFA-Bezeichnung: Cetostearylalkohol ("Lanette® 0 deo"; Fa. Henkel/Düsseldorf),
GMS: Glycerinmonostearat ("Cutina® GMS"; Fa. Henkel/Düsseldorf).

d) Grenzflächen-Moderator (D)

Vitamin E: Pflanzliches Tocopherol ("Copherol-F-1300"; Fa. Henkel Corp./USA),
Eutanol G: 2-Octyldodecanol ("Eutanol® G"; Fa. Henkel/Düsseldorf)

2. Herstellung und Charakterisierung der Emulsionen

2.1. Herstellung der Emulsionen (übliche Arbeitsweise)

Die Komponenten (A) bis (D) wurden gemischt und auf eine Temperatur oberhalb des Schmelzpunktes der Mischung erwärmt und homogenisiert. Dann wurde die Schmelze unter Rühren in das Wasser, welches auf etwa die gleiche Temperatur erhitzt war, einemulgiert. Die Zusammensetzung der Emulsionen ist den Tabellen 1 bis 4 zu entnehmen.

2.2. Herstellung der Emulsionen

Die Emulsionen wurden, wie unter 2.1. beschrieben hergestellt und dann kurzzeitig (ca. 1 Minute) auf 95° C

erhitzt. Dann wurden die Emulsionen rasch, d. h. mit einer Abkühlrate von ca. 2 °C pro Minute, unter Rühren auf Raumtemperatur abgekühlt.

2.3. Ermittlung der Phaseninversionstemperatur

Unter Verwendung einer Leitfähigkeitsmeßbrücke (Fa. Radiometer, Kopenhagen) wurde die elektrische Leitfähigkeit der Emulsionen in Abhängigkeit von der Temperatur ermittelt. Zu diesem Zweck wurde die Emulsion zunächst auf + 20 °C abgekühlt. Bei dieser Temperatur zeigten die Emulsionen eine Leitfähigkeit von über 1 Millisiemens pro cm (mS/cm), d. h., sie lagen als Öl-in-Wasser-Emulsionen vor. Durch langsames Erwärmen mit einer Heizrate von ca. 0,5 °C/min, die mit Hilfe eines Temperatur-Programmebers in Verbindung mit einem Kryostaten gesteuert wurde, wurde ein Leitfähigkeitsdiagramm erstellt. Der Temperaturbereich, innerhalb welchem die Leitfähigkeit auf Werte unterhalb 0,1 mS/cm abfiel, wurde als Phaseninversions-Temperaturbereich notiert.

2.4. Beurteilung der Emulsionen

Die erhaltenen O/W-Emulsionen wurden bei 400facher Vergrößerung im Mikroskop untersucht. Sofern Öltröpfchen erkennbar waren, wurde die Emulsion als "grob" eingestuft; waren dagegen keine Öltröpfchen zu erkennen, so wurde die Emulsion als "fein" bezeichnet. Bei feinteiligen Emulsionen kann dementsprechend von einer Tröpfchengröße unterhalb von 1 µm ausgegangen werden.

2.5 Ergebnisse

Beispiele 1 und 2

Tabelle 1

	V1	B1	B2
Lanette O	4,5	4,5	4,5
Eumulgin B1	6,0	6,0	6,0
Cetiol V ^{a)}	30,0	25,0	20,0
Vitamin E	—	5,0	10,0
Wasser	59,5	59,5	59,5
Emulsion	grob	fein	fein
PIT-Bereich (°C)			
a) untere T.	87	88	79
b) obere T.	90	93	82

^{a)} Dipolmoment = 2,19 D

Im Vergleichsversuch V1 wurde nur eine grobteilige Emulsion erhalten. Demgegenüber wurden bei den erfindungsgemäßen Beispielen B1 und B2 feinteilige Emulsionen erhalten; darüber hinaus ist gegenüber V1 die Phaseninversionstemperatur geringer, das heißt die Herstellung der Emulsion gelingt schon bei niedrigerer Temperatur.

Beispiele 3 bis 6

Tabelle 2

	V2	B3	B4	B5	B6
Lanette 0	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Eumulgin B1	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Myristol 318 ^{b)}	30,0	25,0	20,0	25,0	20,0
Vitamin E	—	5,0	10,0	—	—
Eutanol G	—	—	—	5,0	10,0
Wasser	59,5	59,5	59,5	59,5	59,5
Emulsion	grob	fein	fein	fein	fein
PIT-Bereich (°C)					
a) untere T.	> 100 ^{d)}	93	84	94	93
b) obere T.	> 100	97	88	99	96

^{b)} Dipolmoment = 2,78 D^{d)} > 100 bedeutet dabei, daß im Temperaturbereich bis 100°C keine Phaseninversion beobachtet wurde

Im Vergleichsversuch V2 wurde nur eine grobteilige Emulsion erhalten. Demgegenüber wurden bei den erfindungsgemäßen Beispielen B3 bis B6 feinteilige Emulsionen erhalten; darüber hinaus ist gegenüber V2 die Phaseninversionstemperatur geringer, das heißt die Herstellung der Emulsion gelingt schon bei niedrigerer Temperatur.

Beispiele 7 bis 9

Tabelle 3

	V3	B7	B8	B9
Lanette 0	4,5	4,5	4,5	4,5
Eumulgin B1	6,0	6,0	6,0	6,0
IPM ^{c)}	30,0	25,0	22,0	15,0
Vitamin E	—	5,0	8,0	15,0
Wasser	59,5	59,5	59,5	59,5
Emulsion	fein	fein	fein	fein
PIT-Bereich (°C)				
a) untere T.	86	81	78	68
b) obere T.	90	85	81	81

^{c)} Dipolmoment = 1,96 D

Der Vergleich V3 zeigt, daß bei Ölen mit einem Dipolmoment bis zu 1,96 D feinteilige Emulsionen auch ohne die Gegenwart eines Grenzflächen-Moderators (D) zugänglich sind. Demgegenüber geht aus den erfindungsgemäßen Beispielen B7 bis B9 klar hervor, daß gegenüber V3 die Phaseninversionstemperatur deutlich gesenkt wird, das heißt die Herstellung der Emulsionen gelingt schon bei niedrigerer Temperatur.

Tabelle 4

	V4	B10	B11
GMS	4,5	4,5	—
Eumulgin B1	6,0	6,0	6,0
IPM ^{c)}	30,0	25,0	30,0
Vitamin E	—	5,0	5,0
Wasser	59,5	59,5	59,5
Emulsion	fein	fein	fein
PIT-Bereich (°C)			
a) untere T.	64	60	90
b) obere T.	70	64	95
^{c)} Dipolmoment = 1,96 D			

Das Beispiel B10 zeigt gegenüber dem Vergleich V4 dieselbe Verbesserung wie die Beispiele B7 bis B9 gegenüber dem Vergleich V3.

Das Beispiel B11 macht darüber hinaus deutlich, daß die Verwendung eines Co-Emulgators fakultativ und nicht zwingend erforderlich ist.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von ÖlinWasser-Emulsionen von polaren Ölkörpern (A), **dadurch gekennzeichnet**, daß man

A) 10 bis 90 Gew.-% eines polaren Ölkörpers mit

B) 0,5 bis 30 Gew.-% eines nichtionischen Emulgators mit einem HLB-Wert von 10 bis 18 und

C) 0 bis 30 Gew.-% eines Co-Emulgators aus der Gruppe der Fettalkohole mit 12 bis 22 C-Atomen oder der Partialester von Polyolen mit 3 bis 6 C-Atomen mit Fettsäuren mit 12 bis 22 C-Atomen und

D) 0,01 bis 50 Gew.-% eines Grenzflächen-Moderators, der ausgewählt ist aus der Gruppe der Tocopherole, der Guerbetalkohole mit 16 bis 20 C-Atomen oder eines Steroids mit 1 bis 3 OH-Gruppen in Gegenwart von 8 bis 85 Gew.-% Wasser bei einer Temperatur oberhalb des Schmelzpunktes des Gemisches aus den Komponenten (A) bis (D) emulgiert und die Emulsion auf eine Temperatur innerhalb oder oberhalb des Phaseninversions-Temperaturbereichs erhitzt — oder die Emulsion bei dieser Temperatur herstellt — und dann die Emulsion auf eine Temperatur unterhalb des Phaseninversionstemperaturbereichs abkühlt und gegebenenfalls mit Wasser weiter verdünnt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man den Grenzflächen-Moderator (D) in einer Menge einsetzt, die 0,1 bis 30 Gew.-% entspricht.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß man den Grenzflächen-Moderator (D) in einer Menge einsetzt, die 0,5 bis 15 Gew.-% entspricht.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß man als Grenzflächen-Moderator (D) α -Tocopherol einsetzt.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß man als Grenzflächen-Moderator (D) 2-Octyldodecanol einsetzt.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß man einen polaren Ölkörper (A) einsetzt, der ein Dipolmoment oberhalb von 1,96 D aufweist.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß man einen polaren Ölkörper (A) einsetzt, der ein Dipolmoment im Bereich von 2,0 bis 3,6 D aufweist.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß man das Gewichts-Verhältnis von Ölkörper (A) und Grenzflächen-Moderator (D) im Bereich von 1:0,1 bis 1:1 einstellt.